

Aus der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkranke
der Justus Liebig-Universität Gießen
Abteilung: Poliklinik und zahnärztliche Chirurgie
Prof. Dr. H. Kirschner

NAHRUNGSKONSISTENZ UND ZELLNEUBILDUNG

Autoradiographische Untersuchungen an der Mundschleimhaut der Maus

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der
Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
des Bereiches Humanmedizin
der
Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Karl Huber
Zahnarzt aus Luzern/Schweiz

1972



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkranke
der Justus Liebig-Universität Gießen
Abteilung: Poliklinik und zahnärztliche Chirurgie
Prof. Dr. H. Kirschner

NAHRUNGSKONSISTENZ UND ZELLNEUBILDUNG

Autoradiographische Untersuchungen an der Mundschleimhaut der Maus

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der
Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
des Bereiches Humanmedizin
der
Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Karl Huber
Zahnarzt aus Luzern/Schweiz
1972



Direktor des Bereiches Humanmedizin; Prof. Dr. H. J. Staudinger

Referent : Prof. Dr. H. Kirschner

Correferent : Prof. Dr. Ebner

A EINFÜHRUNG

Mechanismus der Zellneubildung in der Mundschleimhaut

Problemstellung

Eigene tierexperimentelle Untersuchungen

B METHODE

1. Tiermaterial, Haltung
2. Applikation von ^3H - Thymidin und autoradiographische Technik
3. Lichtmikroskopische Auswertung
4. Morphologische Aspekte

C ERGEBNISSE

1. Zellneubildung in der Mundschleimhaut bei Hart- und Weichfutter-
ernährung der Mäuse
2. Statistische Untersuchungen
3. Volumetrische Untersuchungen der Mundschleimhaut

D DISKUSSION

E ZUSAMMENFASSUNG

F LITERATUR

A EINLEITUNG

Die Mundschleimhaut der Wirbeltiere ist einer ständigen Erneuerung unterworfen, die in ihren einzelnen Phasen experimentell exakt mit Hilfe der autoradiographischen Technik untersucht werden kann. MESSIER und LEBLOND (1960) und SCHULTZE und OEHLERT (1960) fanden im ausgewachsenen Tierorganismus drei Gewebsgruppen, die nicht, mäßig oder ständig proliferieren. Mundschleimhaut gehört zu den sich ständig erneuernden Geweben.

Die Experimente wurden mit radioaktiv markiertem Thymidin (^3H -Thymidin) vorgenommen. Thymidin gilt als Vorläufer der Desoxyribonukleinsäure (DNS) und wird bei Bedarf selektiv in die DNS des Zellkerns eingebaut. Es lassen sich im Zellzyklus vier verschiedene Phasen unterscheiden, die nach abgeschlossener Zellteilung mit der sogenannten G_1 -Phase beginnen. In dieser Phase erfolgt eine Vermehrung der Zellmasse ohne Zunahme des Chromatins. Die DNS-Synthesephase folgt auf die G_1 -Phase. Nach Verdoppelung der DNS tritt eine Ruhepause - G_2 -Phase - ein, in der sich die Zelle auf die Teilung vorbereitet; dann erst beginnt die eigentliche Mitose (M-Phase) (LETTRE, PAWELETZ, GHOSH und SIEBS, 1968). Nach den Untersuchungen von KOBURG (1962), KOBURG und MAURER (1962), BÜCHNER und OEHLERT (1961) u. a. besteht für Epithelien des Verdauungstraktes eine DNS-Synthesezeit (S-Phase) von 7 - 8 Stunden. Wird dem Organismus ^3H -Thymidin angeboten, so nehmen alle diejenigen Zellen davon auf, die zur Zeit der Verfügbarkeit DNS synthetisieren. Die Verfügbarkeitszeit wird mit etwa 40 Min. angegeben (KOBURG, 1962); danach ist kein freies markiertes Thymidin mehr im Organismus vorhanden. Nach BERTALANFFY und LAU (1962, 1963), BERTALANFFY (1964) u. a. entspricht die Aktivität in der Zellneubildung der Epithelien des Warmblüterorganismus dem Zellverlust an der Geweboberfläche. ROLSHOVEN (1951) sieht den fortlaufenden Zellnachschub bei den "typischen Abnutzungsgeweben" durch bivalente Zellteilungen gewährleistet. Aus einer totipotenten Zelle ("Mutterzelle") entstehen zwei in ihrer prospektiven Potenz unterschiedliche Tochterzellen. Eine dieser Zellen wandert - unter gleichzeitiger Differenzierung und unter Verlust ihrer Fähigkeit zur DNS-Synthese - in

höhere Gewebsbezirke ab, um an der Oberfläche des Plattenepithels, bzw. der Schleimhaut abgestossen zu werden. Die zweite aus dieser Teilung hervorgegangene Zelle verbleibt in der Indifferenzzone (Stratum germinativum), behält ihre Fähigkeit zur DNS-Synthese und zur Mitose bei und wird zur weiterhin teilungsfähigen, d. h. zur intermitotischen Mutterzelle (OEHLERT und BÜCHNER, 1961). Sie behält also ihre Totipotenz bei und repräsentiert somit die substantielle Grundlage aller metaplastischen Reserven (ROLSHOVEN, 1951).

Das nachfolgend abgebildete Schema nach ZOLLINGER (1968) soll diesen Vorgang verdeutlichen (Abb. 1) :

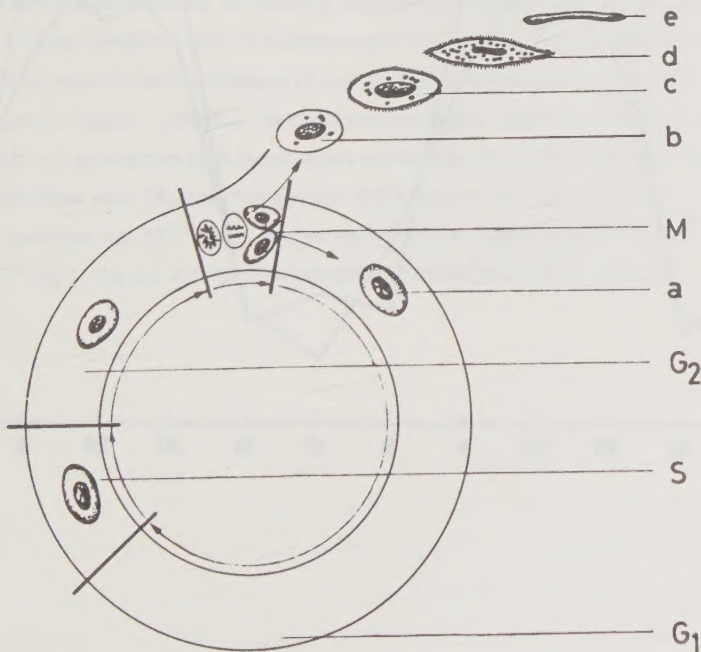


Abb. 1 : Äquale und inäquale Zellteilung, am Beispiel der Epidermis : a=Zelle der Basalschicht der Epidermis in sog. Ruhephase= G_1 , S=kurze DNS-Synthesephase, G_2 =prämitotische Phase, M=Mitosephase, dabei wird die eine Zelle wieder in die G_1 -Phase eingeschleust, die andere postmitotische (b) reift aus, wandert in das Stratum spinosum (c), granulosum (d) und lucidum sowie corneum (e). (Graphik und Legende nach H. U. ZOLLINGER, 1968).

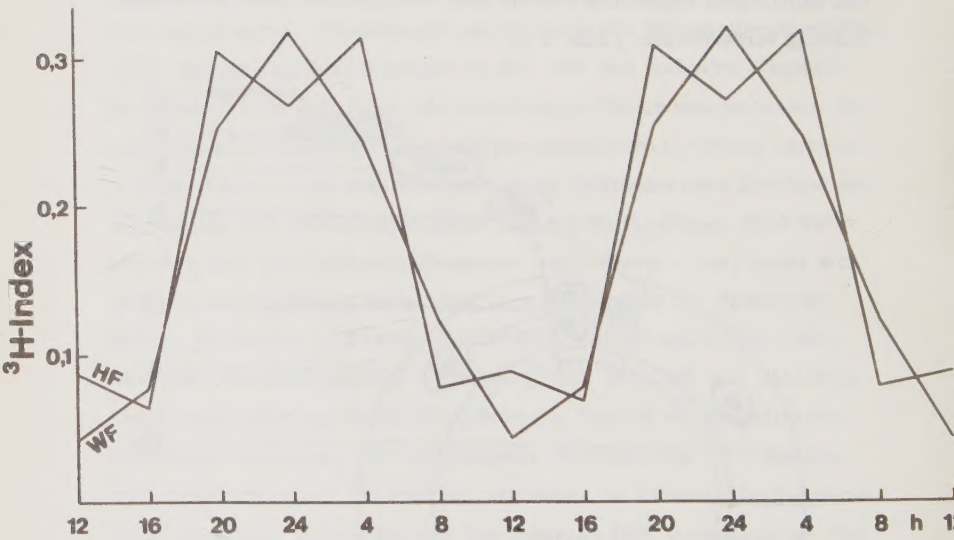


Abb. 2 : Vergleich der mittleren ^3H -Indices aller Schleimhautareale aus der Arbeit von KIRSCHNER (1968) (HF = Hartfuttertiere) und eigenen Untersuchungen (WF = Weichfuttertiere).

Die autoradiographische Methode gibt uns die Möglichkeit einer exakten Beobachtung der Zellneubildung im Stratum germinativum von Epidermis und Mucosa zu einer ganz bestimmten Tageszeit. Sie erlaubt uns darüberhinaus nach ^3H -Thymidin-Injektion eine genaue zeitliche Bestimmung der Zellgenerationsphasen oder der Gesamtregenerationszeit des betreffenden Gewebes.

In dieser Arbeit wurde die Beeinflussbarkeit der Zellneubildung in der Oralmucosa der Maus untersucht.

KIRSCHNER (1967, 1968, 1970) und KIRSCHNER und RÜHL (1969) haben die Zellneubildung für Einzelabschnitte der Mundschleimhaut der Maus nach Verabreichung pelletierten Hartfutters untersucht. Dieses stellt für Rodentia die natürliche Kostform dar. Die gewonnenen ^3H -Indices ergeben ein lückenloses Bild über die Zellneubildung in der gesamten Oralmucosa. Die Untersuchungen erfolgten 4stündig innerhalb der für Nager bekannten 24-Stunden-Periodik und zeichneten sich durch einen markanten Tag-Nachtrhythmus in der Zellneubildung aus. Maxima wurden um 20⁰⁰ und um 4⁰⁰ Uhr gefunden (etwas geringer um 24⁰⁰ Uhr). Zu den untersuchten Tageszeiten (8⁰⁰, 12⁰⁰ und 16⁰⁰ Uhr) lag die Zellneubildungsaktivität auffallend tiefer (Abb. 2).

Unter Berücksichtigung der bekannten Zellgenerationszeiten entsprechen die autoradiographischen Befunde - zeitlich verschoben - etwa den Ergebnissen über Mitoseaktivität in der Epidermis und Schleimhaut von Mäusen und Ratten von BULLOUGH (1948, 1949), MÜHLEMANN (1955), HARTL (1955), EBNETER (1958), RUPF (1959). Die Mitoseaktivität erreicht ihren Höhepunkt in den Morgen- und Vormittagstunden.

Die Arbeiten von KIRSCHNER (1968) werden ausserdem anhand der Forschungsergebnisse von J. ASCHOFF (1954, 1955) diskutiert, der die lokomotorische Aktivität bei Mäusen unter Berücksichtigung exogener und endogener Komponenten (Zeitgeber) untersuchte. Der bei der Nahrungsaufnahme eintretende Schleimhautreiz stellt ganz sicher einen auslösenden exogenen Faktor für die Ingangsetzung der DNS-Synthese dar.

In den vorliegenden autoradiographischen Untersuchungen interessiert - im Hinblick auf die Schleimhautirritation - die Zellneubildungsaktivität bei Verabreichung weicher Kost, ganz besonders auch im Zusammenhang mit der von KIRSCHNER (1968) und KIRSCHNER und RÜHL (1970) beschriebenen Volumenänderung der Mundschleimhaut, die tag-nacht-rhythmisch bei unterschiedlich starker Zellneubildung zu registrieren war.

B M E T H O D E

1. Tiermaterial und Haltung

Die Untersuchungen wurden an männlichen Albinomäusen des Stammes BLH durchgeführt. Die Tiere waren im Durchschnitt 60 Tage alt, geschlechtsreif, aber noch nicht ausgewachsen. Die Haltung geschah in Kunststoffkäfigen mit Holzgranulateinstreu. Die Untersuchungen wurden im Januar vorgenommen bei gleichem Standort der Käfige (Entfernung zum Fenster) und unter Vermeidung künstlichen Lichtes. Die Raumtemperatur betrug $+ 22^{\circ} \text{C}$ ($^{+} 1,8$), die Luftfeuchtigkeit lag zwischen 60 - 70 %.

Das Futter bestand aus einer pulverisierten Kost (Altromin Standardkost für Ratte und Maus, B 0102, 60 mesh) und wurde neben Wasser (Trinkflasche) ad libitum gereicht (Gruppe A).

Mäuse gleichen Alters und Geschlechts (Gruppe B) wurden im Parallelversuch unter sonst gleichen Bedingungen mit grob pelletiertem Hartfutter gleicher Zusammensetzung (Altromin Standardkost für Ratte und Maus, B 0102, ϕ 4,5) gehalten.

2. Applikation von ^3H -Thymidin

Jeweils drei Tiere aus beiden Gruppen (A und B) erhielten zu einer Tageszeit $1\mu\text{C}$ ^3H -Thymidin (spez. Aktiv. 3 C/mMol.) / g Körpergewicht i. p. injiziert und wurden nach 40 Min. getötet. Die Versuchszeiten waren : 12^{00} , 16^{00} , 20^{00} , 24^{00} , 4^{00} und 8^{00} Uhr, so dass insgesamt (in Gruppe A und B) 36 Mäuse in den Versuch genommen wurden.

Die Tötung erfolgte in milder Äthernarkose durch Dekapitation; der Kopf wurde sofort in 10%ige gepufferte Formalinlösung eingelegt, so dass reflektorische "Schnappbewegungen" des Unterkiefers eine gute Durchspülung des Cavum oris und somit eine schnelle Fixation der Mundschleimhaut gewährleisteten.

Alle Präparate wurden einheitlich weiter behandelt, 24 Tage in Titriplex III entkalkt, ge- und entwässert und schließlich in Paraplast eingebettet.

Die Herstellung der histologischen Schnitte erfolgte in Frontal - und Sagittalserienschnitten von $3 - 5\mu$, so dass alle Bereiche des Kopfes und speziell der Mundhöhle voll zur Darstellung kamen.

3. Autoradiographische Technik

Für die Autoradiographie wurde etwa jeder achte Schnitt ausgewählt. Die auf dem Objektträger fest haftenden Schnitte (2 - 4) wurden sorgfältig entparaffiniert und anschliessend getrocknet. Als Kernspurfotoemulsion diente K₂ der Fa. Ilford, mit der bei spezieller Dunkelkammerbeleuchtung (Ilford - S - Safelight) die Objektträger beschichtet wurden (Dipping-Verfahren, BELANGER und LEBLOND, 1946; JOFTES und WARREN, 1955 und JOFTES, 1959). Nach einer Trocknungszeit von 3 - 5 Stunden in der Dunkelkammer kamen die Autoradiogramme in lichtdichte Kästen bei $+4$ bis $+6^{\circ}\text{C}$ zur Exposition. Als Trocknungsmittel erhielten die Expositionsboxen Silikagel. Um möglichst viele Autoradiogramme in einem Arbeitsgang gleichmässig zu behandeln, waren die Behälter für die Aufnahme der Autoradiogramme so gross konstruiert, dass zugleich etwa 240 Objektträger exponiert, fotografisch entwickelt und fixiert werden konnten.

Die Expositionszeit, die hier empirisch ermittelt wurde und 20 Tage betrug, kann nach HUGHES (1959) auch errechnet werden, indem man von bekannten Faktoren ausgeht. Dazu gehören die spezifische Aktivität (radioaktive und -inaktive Menge), die Zerfallsrate des Isotops, die notwendigen Zerfallsereignisse, um in der Fotoschicht eine bestimmte Anzahl von Silberkörnern (Schwärzungseffekt) hervorzurufen, und der Gehalt von Thymidin-Einheiten eines Zellkerns.

Wie bekannt, bildet sich bei Einwirkung ionisierender Strahlung auf einer nicht belichteten Fotoemulsion metallisches Silber, das durch den Entwicklungsprozess sichtbar gemacht wird. Die Schwärzungseffekte in der Filmschicht des Autoradiogrammes geben daher ein Bild der darunter liegenden Aktivitätszentren im histologischen Schnitt.

4. Lichtmikroskopische Auswertung

Das lichtmikroskopische Auflösungsvermögen geballt liegender Silbergranula in der Filmschicht ist von mehreren Faktoren abhängig, hauptsächlich aber von dem Abstand der Aktivitätszentren im Gewebe wie auch von der Beschaffenheit der Emulsion (kleines oder grosses Korn), der Reichweite der Strahlung und dem Kontakt zwischen Gewebe und Filmschicht. Die Elektronen von Tritium ($E_{\max} = 0,018 \text{ MeV}$) reichen in Filmemulsion etwa $0,8 - 2\mu$ (HUGHES, 1959; FITZGERALD, EIDINOFF, KNOLL und SIMMEL, 1951 und TAYLOR, 1960). Das Korn der K_2 -Emulsion ist klein; ausserdem wurde ein guter Kontakt zwischen Gewebe und Filmschicht erreicht.

Wir erhielten ausnahmslos gut zu deutende Autoradiogramme. Silberkörner, die gleichmässig verteilt in allen Filmschichtsbereichen (nicht nur über Gewebe) zu finden waren, entsprachen dem sogenannten Null-Effekt oder Background, der nach ROGERS (1967) viel weniger durch atmosphärische Strahlung hervorgerufen werden soll als vielmehr durch Fehler, die bei der Herstellung der Autoradiogramme vorkommen können. In keinem Falle war der Null-Effekt so stark, dass die Interpretation der Autoradiogramme Schwierigkeiten verursachte.

5. Morphologische Aspekte

Zur Einteilung der Mundschleimhaut in Einzelbereiche hielt ich mich an die Angaben von KIRSCHNER (1968), der 9 Areale untersuchte und wie folgt bezeichnete (teilweise dargestellt in Abb. 3):

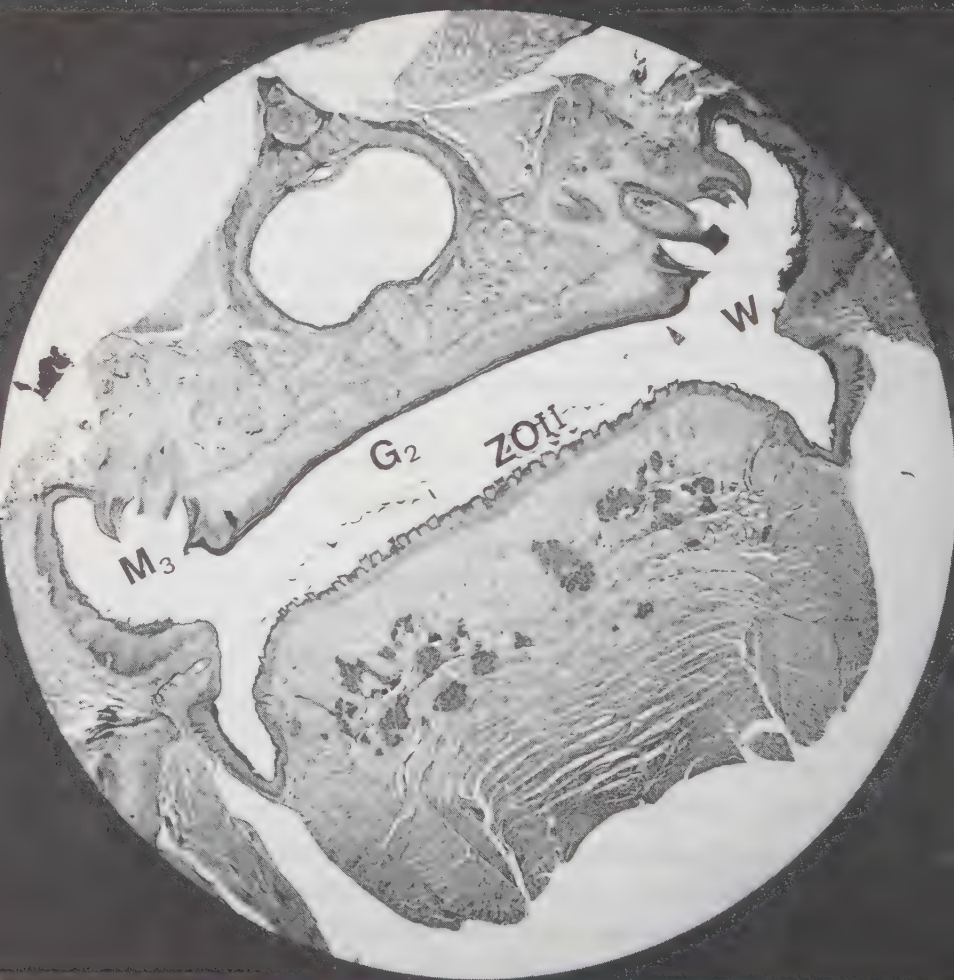


Abb. 3 : Mundhöhle der Maus (Frontalschnitt, Molarenregion, 80 : 1).

ZOII = Schleimhaut der Zunge (Molarenbereich);

W = Schleimhaut der Wange (Molarenbereich);

G2 = Schleimhaut des harten Gaumens (Molarenbereich);

M₃ = dritter Molar.

(Chesa - Färbung)

G ₁	= Schleimhaut des harten Gaumens im prämaxillären Bereich;
G ₂	= Schleimhaut des harten Gaumens im Molarenbereich;
G ₃	= Schleimhaut des weichen Gaumens;
ZO _I	= Schleimhaut der Zungenoberseite (im gleichen Abschnitt wie G ₁);
ZO _{II}	= Schleimhaut der Zungenoberseite (im gleichen Abschnitt wie G ₂);
ZO _{III}	= Schleimhaut des Zungengrundes;
ZU	= Schleimhaut der Zungenunterseite;
M	= Schleimhaut des Mundbodens;
W	= Schleimhaut der Wangen.

Diese Aufteilung ist primär nach morphologischen Gesichtspunkten vorgenommen worden. Dabei war der jeweilige Keratinisierungsgrad der Schleimhaut bestimmend. Die Oralschleimhaut der Maus ist im Vergleich zur menschlichen Mundschleimhaut (HAIM, 1964) in allen Abschnitten verhornt.

Der Verhornungsgrad ist recht unterschiedlich und scheint sich nach dem subepithelialen Gewebsaufbau zu richten, so dass wir auf knöcherner Unterlage (harter Gaumen) eine kompakte Keratinbildung finden, im Wangenbereich (auf weicher Unterlage, Muskulatur) ein sehr locker aufgebautes Stratum corneum beobachten (Abb. 3).

Zur Darstellung dieser Unterschiede in der Keratinisierung wurde eine Mehrfachfärbung herangezogen (BURCK, 1965), mit der sich bei Verwendung der Farbstoffe Hämalan, Erythrosin, Xoelestin, Alciangrün und Safran einmal eine tiefrote Abgrenzung der verhornten Abschnitte ergibt, zum anderen färben sich die Zellkerne violett, Bindegewebe und Knochen gelb und die Mucopolysaccharide grünblau (von Ebnersche Drüsen, Knorpel etc.). Die fertigen Autoradiogramme dagegen wurden nur mit Hämalan (nach P. Mayer) durch die Filmschicht hindurch gefärbt.

C ER G E B N I S S E

1. Zellneubildung in den einzelnen Mundschleimhautarealen bei "Weich- und Hartfüttertieren"

Ziel dieser Untersuchungen war u. a., die Arbeiten von KIRSCHNER (1968) zu ergänzen, bzw. weiterzuführen, und zwar hauptsächlich die Prüfung der Beeinflussbarkeit der Zellneubildung durch Wegfall schleimhautirritierender Komponenten (Hartfutter) während der Nahrungsaufnahme. Um vergleichbare Ergebnisse und Kurven zu erhalten, lag es nahe, gleiche Schleimhautareale unter gleichen Voraussetzungen zu untersuchen. Einzige Abweichung bildete die Kostform.

Zu jeweils gleichen Tages-Nachtzeiten waren - bei lichtmikroskopischer Betrachtung der Autoradiogramme - keine sofort ins Auge fallenden Markierungsunterschiede zwischen den einzelnen Arealen festzustellen. Vermutbar war eine etwas stärkere Markierungsdichte im vorderen und mittleren Abschnitt der Zungenoberfläche und des harten Gaumens verglichen mit weichem Gaumen und Zungengrund. Präparate der Nachtzeiten aller Areale - vorab um Mitternacht - zeigten jedoch ganz auffallend stärkere Markierungen als jene der Tageszeiten.

Markierte Zellkerne sind, besonders bei stärkerer Verzäpfung oder Fältelung der Schleimhaut (Zungenoberseite und Wange), äusserst schwierig auszu-zählen, da sie sich oft überlagern und der Verlauf der Basallamina nur unsicher zu bestimmen, bzw. nur zu vermuten war.

Um stufenweise vorzugehen, wurde mit dem Auszählen markierter Kerne zu Tageszeiten (8⁰⁰, 12⁰⁰ und 16⁰⁰ Uhr) an weichem und hartem Gaumen, Zungengrund und Mundboden begonnen. An der Gaumenschleimhaut war es besonders günstig, das einschichtige Stratum germinativum zu erkennen, das vom Bindegewebe der Lamina propria durch die (nicht zu erkennende) Basallamina häufig wie abgeschnitten erschien. Im darunter liegenden Bindegewebe waren - auch in anderen Arealen und zu Nachtzeiten - sehr wenig markierte Zellkerne zu erkennen.

Um nur sicher markierte Zellkerne mitzuzählen, musste jeder Kern mindestens 5 Silberkörner über sich vereinigen, um als markiert zu gelten. Dies bedingte stärkere Vergrößerungen (Ölimmersion) bei der Auszählung der Kerne. An der Gaumenschleimhaut kann die Zählstrecke verhältnismässig leicht begrenzt werden, so dass nach zweimaliger Zählung derselben Strecke ein hoher Genauigkeitsgrad erreicht wird (Vergleichszählung durch eine zweite Person). Dieses Vorgehen erweist sich jedoch bei den stark bindegewebig verzapften Mucosaabschnitten, besonders bei hohem ^3H -Index, als recht schwierig, worauf später noch eingegangen werden soll.

Die dünn ausgezogenen Kurven (Abb. 4) entsprechen den jeweiligen ^3H -Indices dieser 9 Areale über die 6 festgelegten Untersuchungszeiten (aufgezeichnet über 48 Stunden).

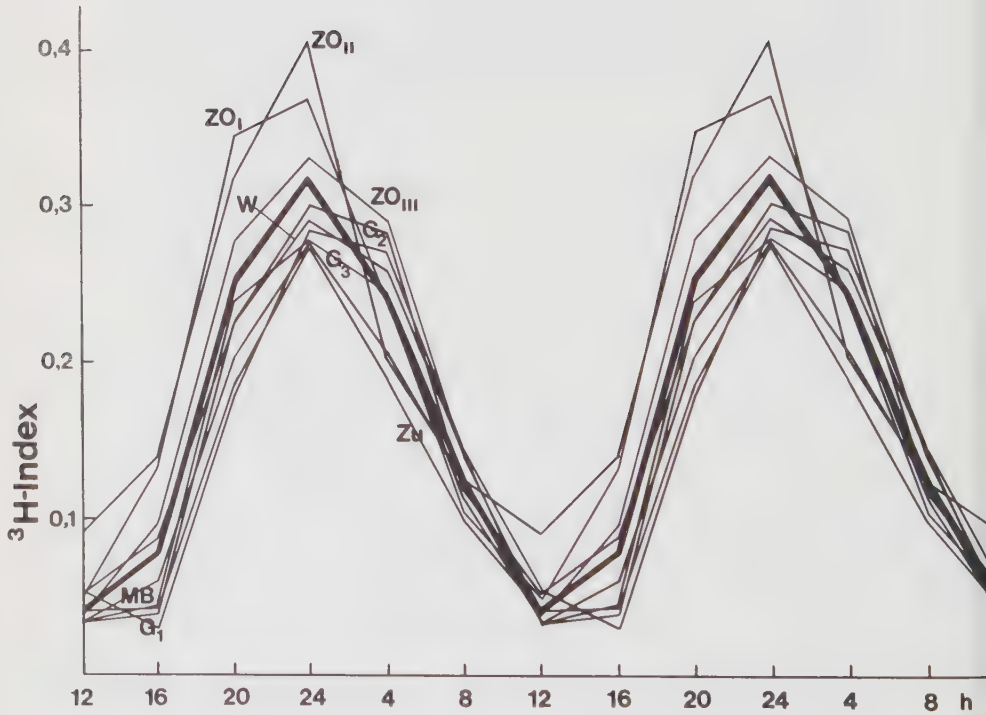


Abb. 4 : ^3H -Indices der 9 untersuchten Areale (ZO_I , ZO_{II} , ZO_{III} , ZU, G_1 , G_2 , G_3 , M und W) über Untersuchungszeiten in 24 Stunden (aufgezeichnet über 48 Stunden; Mittelwertskurve fett) 40 Min. nach ^3H -Thymidin-Applikation.

Jeder Kurve liegen folglich 6 Messpunkte zugrunde, von denen jeder einzelne den ^3H -Index des jeweiligen Schleimhautareals zu einer bestimmten Zeit angibt. Für den Einzelmesspunkt liegen durchschnittlich 9'000 bis 10'000 Zellzählungen vor. Errechnet man zu den jeweiligen Tages-Nachtzeiten den Mittelwert aus allen 9 Regionen, so erhält man eine Mittelwertskurve. Die Einzelwerte derselben sind aufgrund von jeweils 70'000 bis 90'000 gezählten Zellkernen ermittelt worden. Das entspricht durchschnittlich einer 80fachen Absicherung, da der ^3H -Index üblicherweise aus 1'000 gezählten Zellen bestimmt wird.

Die Schleimhaut des Mundbodens und der Zungenunterseite zeigten bei der Auswertung ähnliche Verhältnisse wie die beiden Gaumenabschnitte. Papillenfrei sind nur die hinteren zwei Drittel der Zungenunterseite, die Papillenregion der Oberseite zieht sich um die Zungenspitze herum und ein gutes Stück auf der Unterseite entlang. Die papillentragende Mucosa erschwerte eine exakte Zählung ganz erheblich, da in die Papillen wiederum kleine Papillenzapfenartig eingelassen sind (sekundäre Papillen); dadurch kann der Verlauf der Basalzellschicht nur mit äusserster Mühe ausgemacht werden. Es kommt hinzu, dass bei starker Vergrösserung (Ölimmersion) die Übersichtlichkeit eingeschränkt war, so dass in diesen Bereichen im gleichen Durchgang markierte und unmarkierte Zellen gleichzeitig gezählt werden mussten.

Das Auszählen der Basalzellschicht der Wangenschleimhaut bot weniger, wenn auch ähnliche Schwierigkeiten wie die papillenbesetzten Abschnitte der Zunge. Die Randzonen verlaufen mehr gestreckt und ähneln so dem Bild der Schleimhaut von Zungengrund und Gaumen.

Als Nebentbefund seien vereinzelte DNS-synthetisierende Zellkerne über kleinen serösen und mukösen Drüsen der Zunge, der Wange und des weichen Gaumens erwähnt. In schleimhautnaher Muskulatur (Zunge, Wange) fanden sich extrem selten Zellen in DNS-Synthese.

Wie aus Abb. 4 ersichtlich, lässt sich aus der Mittelwertskurve ablesen, dass auch bei weichfutterernährten Tieren ein prägnanter Tag-Nachtrhythmus bezüglich der Zellneubildungsrate vorhanden ist.

Die Kurve zeigt fast symmetrischen Verlauf und sieht - trotz vierstündiger Intervalle - der Gauß'schen Verteilungskurve recht ähnlich. In den Morgen- und frühen Nachmittagsstunden findet generell geringste Zellneubildung statt (Minimum um 12⁰⁰ Uhr mittags).

Zwischen 16⁰⁰ und 20⁰⁰ Uhr kommt es dann zu stark zunehmender Proliferationsvorbereitung, die ihren Höhepunkt gegen Mitternacht erreicht. Zu dieser Zeit bereitet sich fast jede dritte Zelle der Basalschicht auf die Teilung vor. Das Bild der nächstfolgenden Zeit (4⁰⁰ Uhr) ist dem von 8⁰⁰ Uhr sehr ähnlich; nur etwa jede vierte Zelle nimmt jetzt markiertes Thymidin auf; um 8⁰⁰ Uhr ist es nur noch jede achte Zelle im Stratum basale, d. h. die Zellneubildungsaktivität ist in den letzten vier Stunden auf die Hälfte zurückgegangen und sinkt dann bis zur Mittagszeit wieder auf das Minimum ab. Nur noch knapp 5 % der Zellkerne weisen Markierungen auf.

Vergleicht man die verschiedenen Areale zu jeweils einer bestimmten Tages-Nachtzeit untereinander, fällt sofort auf, dass - trotz Weichfutter - diejenigen Schleimhautbezirke am stärksten an der Zellneubildung beteiligt sind, die bei der Nahrungsaufnahme mechanisch am meisten beansprucht werden, so vor allem die Zungenoberfläche und der mittlere Gaumenabschnitt. Die Werte für die Proliferation in den Zungenoberflächenabschnitten liegen zwischen 12⁰⁰ und 24⁰⁰ Uhr deutlich höher, also über dem mittleren Zellneubildungswert. Die Zahlen für den Abschnitt "Zungengrund" liegen zwischen 12⁰⁰ und 24⁰⁰ Uhr tiefer als die der übrigen Zungenoberflächenabschnitte, übersteigen sie jedoch in der zweiten Nachthälfte (24⁰⁰ bis 8⁰⁰ Uhr).

Diese später einsetzende und länger anhaltende Proliferation des Zungengrundes, die bei den "Weichfuttertieren" deutlich ist, kommt bei "Hartfuttertieren" noch stärker zum Ausdruck. In dieser Versuchsreihe liegen die Werte ZO_{III} um 20⁰⁰ und 24⁰⁰ Uhr sehr tief (verglichen mit allen übrigen Mucosaab-

schnitten), steigen aber gegen 4⁰⁰ Uhr stark an und erreichen den höchsten Wert aller Areale zu dieser Zeit. Ganz generell - d. h. für "Weich-" und "Hartfuttertiere" gleichermaßen - konnte festgestellt werden :

Je schneller es zum zahlenmässigen Anstieg DNS-synthetisierender Zellen kommt, also je höher der ³H-Index ist, umso schneller vollzieht sich - nach Erreichen des Höhepunktes - der Rückgang in der Zellneubildung. Schleimhautabschnitte, die geringer mechanischer Irritation unterliegen, weisen grundsätzlich niedrigere Zellneubildungsraten auf. Dazu gehören die Areale : Mundboden, Zungenunterseite und teilweise weicher Gaumen sowie Wange.

Regionen, die gleicher oder sehr ähnlicher mechanischer Beanspruchung unterliegen, sind sich bezüglich der ³H-Indices (Zellneubildungsratenverlauf) sehr ähnlich.

Zusammengefasst haben die gefundenen Werte der Tiergruppe "Weichfutter" folgenden Aufbau :

Bezirke mit erheblich unterschiedlicher mechanischer Beanspruchung weisen über die Tages-Nachtzeiten die grössten Abweichungen in der Zellproduktion auf. Da diese Beziehungen in Abb. 4 anschaulich zum Ausdruck kommen, ist eingehendere Beschreibung nicht erforderlich.

Ein weiterer Unterschied besteht in der gemessenen zeitlich variablen Differenz der Zellneubildung zwischen den Arealen. Bei hoher Produktionsrate sind die Unterschiede grösser. Ausserdem fällt auf, dass diese Unterschiede um 20⁰⁰ Uhr (und n i c h t um Mitternacht !) am stärksten sind (vgl. Abb. 4).

Da die Zellneubildungsvorbereitungen "schnell reagierender" Zonen auch in kürzerer Zeit wieder abfallen und die Zonen "langsamer Reaktion" in ihren Werten langsam sinken, wird auch der Differenzwert ab 20⁰⁰ Uhr ständig kleiner. Meine Untersuchungen zeigen, dass auch ohne stark irritierende Hartfutterkomponente allgemein dort eine überdurchschnittliche Zellproliferation zustande kommt, wo der Speisebrei in innigem Kontakt mit der Schleimhaut passiert. Weniger exponierte Mucosabereiche liegen in ihrer Zellneubildungsrate über die Tages-Nachtzeiten deutlich tiefer.

2. Statistische Untersuchungen

Um den tatsächlichen Unterschied in der Zellneubildung nach Verabreichung verschiedener Kostformen darzustellen, bedarf es des statistischen Vergleichs. WINER (1962) hat in seinem Werk "Statistical principles in experimental design" Modelle der Varianzanalyse angegeben, die unserer Fragestellung gerecht werden. Mit Hilfe des folgenden Modells sind mehrere Vergleiche möglich, d. h. nicht nur "innerhalb" und "zwischen" den Tieren und Tiergruppen meines Versuchs (Weichfutter), sondern gleichzeitig zu hartfutterernährten Tieren aus Untersuchungen von KIRSCHNER (1968).
Verwendetes Modell :

$$x_{eijm} = \mu + \delta_e + \alpha_i + \delta\alpha_{ei} + \pi_{m(ei)} + \beta_j + \delta\beta_{ej} + \alpha\beta_{ij} + \delta\alpha\beta_{eij} + \beta\pi_{jm(ei)}$$

Die Symbole entsprechen den nachstehenden Effekten :

μ	= allgemeiner Mittelwert
δ_e	= Effekte für "Hart-" und "Weichfutter"
α_i	= Effekte für Tageszeiten
$\gamma_{\alpha_{ie}}$	= Effekte für "Weichfutter" und "Hartfutter" über die Tageszeiten
$\pi_{m(ij)}$	= Messfehler zwischen "Hart-" und "Weichfutter" über die Tageszeiten (Interaktion)
β_j	= Effekte für die Areale
$\gamma_{\beta_{ij}}$	= Effekte innerhalb der Areale zwischen "Hart-" und "Weichfutter"
$\alpha\beta_{ij}$	= Effekte innerhalb der Areale über die Tageszeiten
$\gamma_{\alpha\beta_{eij}}$	= Effekte innerhalb der Areale über die Tageszeiten zwischen "Hart-" und "Weichfutter"
$\beta\pi_{jm(ei)}$	= Messfehler innerhalb der Areale zwischen "Hart-" und "Weichfutter"

In dem Vergleich werden Tageszeiten, Areale sowie Areale und Tageszeiten berücksichtigt. Da ausserdem zwei Versuchsgruppen ("Weich-" und "Hartfutter") miteinander verglichen werden sollen, entspricht das aufgestellte Modell einem "Drei-Faktoren-Plan mit wiederholten Messungen bei einem Faktor" (WINER, 1962). Es ergeben sich sieben Aussagen, von denen vier über Interaktionen ermittelt wurden.

Zur Durchführung der Rechnung sind die gefundenen Rohdaten (^3H -Indices ; transformiert worden. Dadurch wird die Additivität der Effekte besser garantiert. Auf die ausführliche Darstellung des Rechenganges soll hier verzichtet werden.

Quelle	S S	df	M S	F	P
Between subjects	17,6154	23			
G	0,2179	1	0,2179	23,40	0,001
A	16,5718	5	3,3143	355,99	0,001
G A	0,7140	5	0,1428	15,34	0,001
subjects betw. groups	0,1117	12	0,00931		
Within subjects	3,0043	192			
B	1,1659	8	0,1457	19,43	0,001
G B	0,0395	8	0,00494	-	-
A B	0,6840	40	0,0171	2,28	0,001
G A B	0,3946	40	0,00987	1,32	-
B x subj. with. groups	0,7203		0,00750		

Tab. 1 (Erläuterung im Text)

- 1.) Die Zellneubildung sinkt bei weichfutterernährten Mäusen signifikant ab (G).
- 2.) Die Zellneubildung ist zu verschiedenen Tageszeiten signifikant unterschiedlich hoch (A).
- 3.) Die Zellneubildung sinkt bei Tieren mit Weichfutter zu verschiedenen Tageszeiten signifikant unterschiedlich ab (GA, I. Interaktion).
- 4.) Die Zellneubildung ist in den verschiedenen Arealen signifikant unterschiedlich hoch (B).
- 5.) Die Zellneubildung sinkt bei weichfutterernährten Tieren in den verschiedenen Arealen nicht gesichert verschieden ab (GB, II. Interaktion).
- 6.) Die Zellneubildung ist zu verschiedenen Tageszeiten in den Arealen signifikant verschieden hoch (AB, III. Interaktion).
- 7.) Die Zellneubildung sinkt bei Tieren mit Weichfutter zu verschiedenen Tageszeiten in den einzelnen Schleimhautbereichen nicht gesichert verschieden ab (GAB, IV. Interaktion).

Interpretation

Für die erste Aussage (G) können die Mittelwerte der Zellraten aller Areale über die Tageszeiten aus beiden Versuchsgruppen (hart - weich) verglichen werden (Abb. 4). Die Zellneubildungsraten (^3H -Indices) liegen bei "Hartfuttermäusen" - wie bereits beschrieben - um 0,02 höher als bei weichfütterernährten Tieren.

Für die Areale G_2 und ZO_{II} betragen die Abweichungen etwa das Doppelte (0,05) (siehe auch Abb. 5).

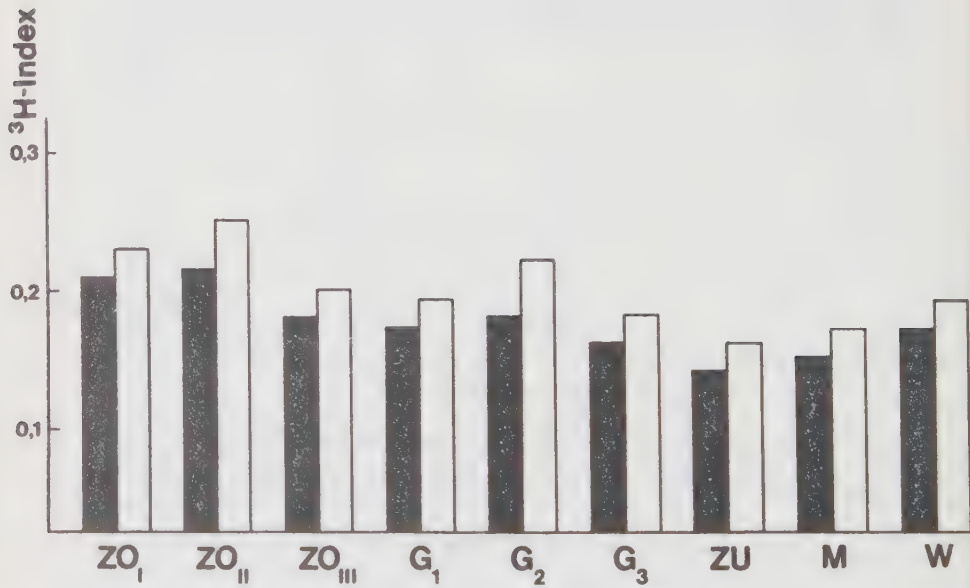


Abb. 5 : Mittelwerte der ^3H -Indices (Ordinate) aller Tageszeiten bei "Hartfuttertieren" (weiss) und "Weichfuttertieren" (schwarz) für die Schleimhautareale (Abszisse) ZO_I , ZO_II , ZO_III , G_1 , G_2 , G_3 , ZU, M und W 40 Min. nach ^3H -Thymidin-Applikation.

Das Ergebnis der Varianzanalyse unter A bezieht sich auf den Rhythmus. Die Erklärung ist durch die graphische Darstellung (Abb. 4) gegeben.

Auch das statistische Ergebnis unter Punkt 3 (GA) lässt sich gut graphisch veranschaulichen, indem man die Kurven für die Zellneubildung der Areale aus "Weichfutter-" und "Hartfutter - Versuchen" vergleicht.

Das Ergebnis unter GB ist nicht signifikant, da die Niveauunterschiede in den Arealen nicht deutlich genug hervortreten (Abb. 5, schwarze Säulen).

Zur Erklärung der Aussagen unter Punkt 6 verweise ich auf die Abb. 2, unter Punkt 7 auf die Abb. 2 und 5.

Die Ergebnisse werden in der Diskussion ausführlicher abgehandelt.

3. Volumetrische Untersuchungen

Volumetrische Messungen der Oralschleimhaut, wie sie von KIRSCHNER (1968, 1970) bei hartfutterernährten Mäusen angegeben wurden, habe ich parallel an meinem Untersuchungsmaterial vorgenommen. PINKUS (1951, 1952) und OEHLERT (1961, 1966), KARASEK und BERTELMANN (1966) konnten an Schweineepidermis durch wiederholtes Abstreifen der oberflächlichen Hornschichten (mittels Klebestreifen) eine fast spontane zahlenmässige Erhöhung DNS-synthetisierender Zellen im Stratum basale provozieren. Gleichzeitig konnten genannte Autoren eine stärkere Durchsaftung der betroffenen Schleimhautpartien feststellen, d. h. Zellödeme, eine Erweiterung der Interzellularräume etc..

Aufgrund dieser Forschungsergebnisse war für unsere Untersuchungen der Gedanke einer "Schleimhautschwellung" bei starker Zellproliferation - also zu den untersuchten Nachtzeiten - vermutbar. Eine erste Bestätigung dieser Annahme stellten schon die entsprechenden Untersuchungen von KIRSCHNER (1968) dar.

In gleicher Weise habe ich an der Unterzungenschleimhaut der Maus bei meiner Versuchsserie Messungen vorgenommen. Das untersuchte Areal ist in Abb. 6, der Messvorgang in Abb. 7 dargestellt.



Abb. 6 : Mundschleimhaut der Maus (Sagittalschnitt)

Auftellung in Einzelschnitte; der Abschnitt ZU zwischen den beiden Pfeilen wurde für die volumetrischen Untersuchungen verwendet.

G = Gaumen; ZO = Zungenoberseite; ZU = Zungenunterseite;

IO = Incisivus des Oberkiefers; IU = Incisivus des Unterkiefers.

(20 : 1)

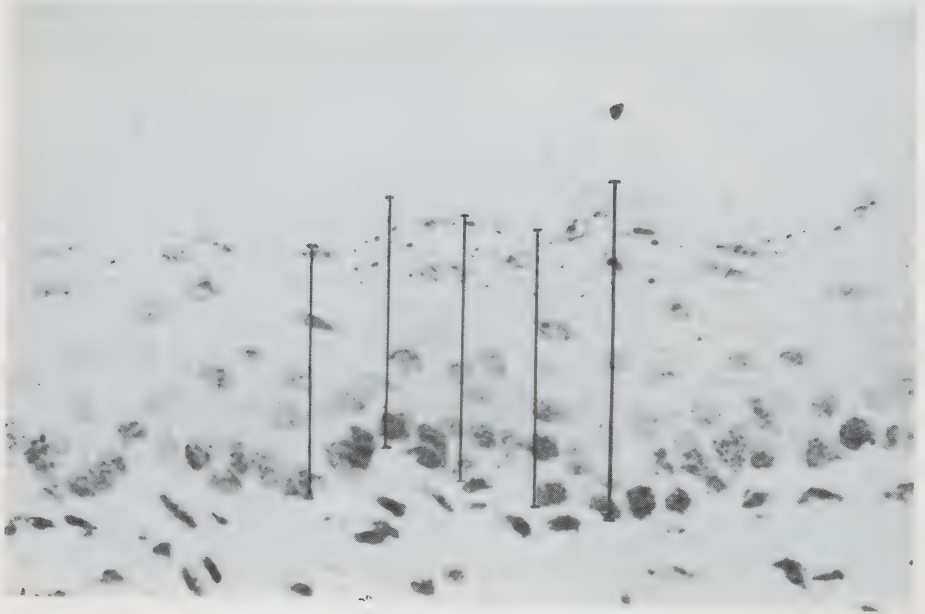


Abb. 7 : Schleimhaut der Zungenunterseite; für die Messungen wurde der kürzeste Weg an die Unterseite des Stratum corneum gewählt.
(600 : 1)

Innerhalb einer Tiergruppe zu einer Zeit wurden etwas über 1'000 Messungen vorgenommen. Die Summe der Messungen dividiert durch die Anzahl der Messungen ergibt für jede der untersuchten 6 Tages-Nachtzeiten einen Mittelwert, der in Abb. 8 (Kurve VOM) dargestellt ist.

Es ergeben sich um 24⁰⁰ Uhr und um 8⁰⁰ Uhr jeweils Maxima in der Schleimhautausdehnung (Abb. 8). Diese Höhepunkte weichen von denen bei "Hartfuttermäusen" gefundenen (Abb. 9) im Sinne einer Verschiebung um jeweils ein 4-Stunden-Intervall ab. Das entspricht etwa der Abweichung in der Zellneubildung zwischen den Versuchen "Hart-" und "Weichfutter". In meinen Untersuchungen liegt das Zellneubildungsmaximum um 24⁰⁰ Uhr (Abb. 2, 4 und 8) und deckt sich mit der maximalen Schleimhautausdehnung. Der zweite Höhepunkt in der Schleimhautausdehnung bei Weichfütterung ist gegen 8⁰⁰ Uhr verschoben (Abb. 8). Zu dieser Zeit ist der ³H-Index bereits stärker abgesunken. Es ist anzunehmen, dass das 4-Stunden-Intervall speziell hier zur Erfassung der genaueren Vorgänge zu lang gewählt ist und die kompensatorische Volumenveränderung dem autoradiographisch objektivierbaren Höhepunkt in der Zellneubildungsaktivität etwas "nachhinkt".

Als Vergleich zu Abb. 8 sind aus einer Arbeit von KIRSCHNER (1970) Schleimhautvolumen (auch Zungenunterseite) und Mittelwert der rhythmischen Zellneubildung in Abb. 9 dargestellt.

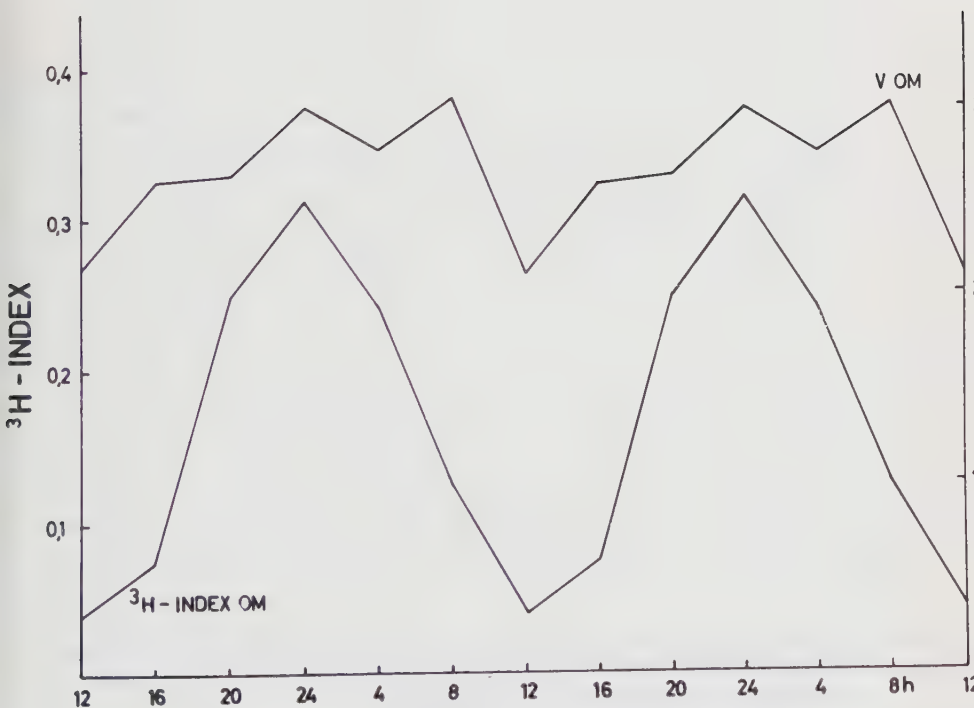


Abb. 8 : Mittlerer ^3H -Index für die Mundschleimhaut der weichfutterernährten Maus, 40 Min. nach ^3H -Thymidin-Applikation zu den verschiedenen Tag-Nacht-Zeiten (Kurve $^3\text{H-Index OM}$).
Schleimhautdicke (Zungenunterseite, Maus) über 24 Stunden (Kurve $V OM$).

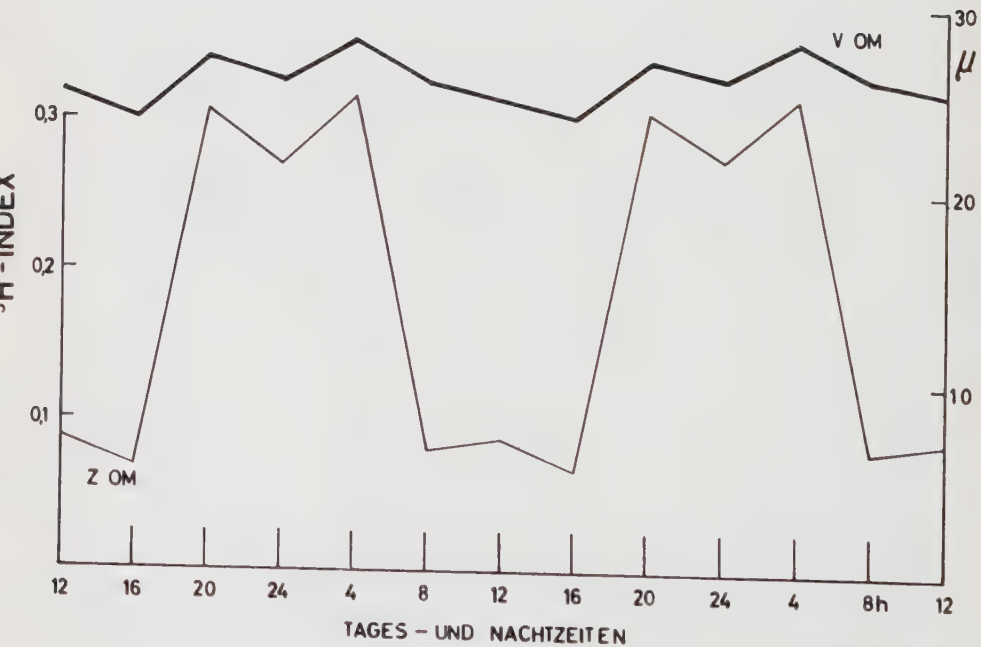


Abb. 9 : Mittlerer ^3H -Index für die Mundschleimhaut der hartfutterernährten Maus. 40 Min. nach ^3H -Thymidin-Applikation zu den verschiedenen Tag-Nacht-Zeiten (Kurve Z OM). Schleimhautdicke (Zungenunterseite, Maus) über 24 Stunden (Kurve V OM). (KIRSCHNER, 1970)

D DISKUSSION

CAMERON und CLEFFMANN (1964) stellen fest, dass zur Zeit über den Mechanismus zum Anstoss der Zellerneuerung durch Schleimhautirritation bei der Nahrungsaufnahme wenig bekannt ist. Ebenso kann wenig über die Zeit ausgesagt werden, die zwischen Schleimhautreiz und Proliferationsbeginn liegt.

Vergleicht man die Ergebnisse der Untersuchungen von KIRSCHNER (1968) mit den Aussagen meiner Arbeit, lassen sich in Bezug auf die Arbeit von CAMERON und CLEFFMANN interessante Vergleiche anstellen :

KIRSCHNER hat Mäuse mit pelletiertem Hartfutter ernährt und die normale Zellerneuerungsrate im Stratum basale der Mundschleimhaut im Tag-Nacht-Rhythmus gemessen. In meinen Untersuchungen habe ich Mäuse mit Weichfutter (60 mesh) gleicher Zusammensetzung ernährt, sonst aber die Versuchsbedingungen eingehalten, die auch KIRSCHNER in seinem Versuch beschrieben hat.

Vergleicht man nun die tag-nacht-rhythmischen Proliferationsraten, so ergeben sich zeitliche Verschiebungen vergleichsweise in der Zellneubildungsaktivität insofern, als z. B. der Höhepunkt der Zellneubildungsaktivität bei weichfutter-ernährten Tieren um ein 4-Stunden-Intervall (von 20⁰⁰ nach 24⁰⁰ Uhr) verschoben ist. Auch erreicht die Gesamtzellneubildung über 24 Stunden in meinem Versuch nicht die Höhe in der Zellneubildung wie in den Untersuchungen von KIRSCHNER.

KOBURG (1962) beschreibt, dass der Prozentsatz der teilungsbereiten Zellen von der Nase in Richtung Epipharynx ansteigt, im Mesopharynx einen Gipfel erreicht und zu den tieferen Atemwegen hin wieder abfällt. Die grosse Neubildungsrate im Mesopharynx hängt offenbar damit zusammen, dass dieser Abschnitt sowohl Atem- als auch Speiseweg ist. Ganz ähnliche Befunde hat KIRSCHNER bei der Untersuchung der Zellneubildung an der Schleimhaut des Cavum oris erhoben. Auch hier zeigen Schleimhautbereiche, die unmittelbar mit dem Speisebrei in Kontakt kommen, einen höheren ³H-Index.

Man kann bei Nagern ziemlich genau die kontinuierliche Zuwachsrates der Incisivi messen. Zur Erhaltung des physiologischen Kaugleichgewichtes, d. h. wenn eine abnorme Verlängerung der Incisivi vermieden werden soll, bedürfen diese Tiere harter Nahrung. Zur Reaktion des Oralepithels bei Verabreichung weicher Nahrung war bisher nichts bekannt. Meine Untersuchungen haben gezeigt, dass eine kurzfristige Änderung der Nahrungskonsistenz (Weichfutter) eine signifikante Abweichung im tag-nacht-zeitlichen Neubildungsrhythmus bedingt.

Bezüglich der Stimulation zur Zellneubildung in der Mundschleimhaut durch eine Reihe ineinander greifender exogener Faktoren (KIRSCHNER 1968, 1969) werden die Ergebnisse dieser Arbeiten durch meine Befunde unterstützt und ergänzt. Die dämmerungsaktive Maus beginnt bei Abnahme des Tageslichtes mit körperlicher Aktivität (Nahrungssuche). Nahrungsaufnahme und -zerkleinerung bedingen eine Schleimhautirritation, und mit der Nahrungsaufnahme und Schleimhautirritation sehen wir ein spontanes Ansteigen der DNS-synthetisierenden Zellen im Stratum basale der Mundschleimhaut, ganz besonders in jenen Regionen, in denen sich der Speisebrei in intensivem Kontakt mit der oralen Mucosa befindet.

Wir wissen aus Untersuchungen von J. ASCHOFF und Mitarb. (1954, 1955 a, b), dass sog. "Zeitgeber" bei der Steuerung physiologischer Funktionen eine wesentliche Rolle spielen. Als ein auslösender Zeitgeber in der Reihe exogener Faktoren, die zum Zellerneuerungsprozess führen, gilt das Tageslicht, der Licht-Dunkel-Effekt. Ausserdem kann die Zellneubildung zu jeder Tageszeit auch artifiziell provoziert werden, wie Untersuchungen von OEHLERT, KARASEK und BERTFLMANN (1966) an Schweineepidermis zeigten.

HOOPER und BLIAR haben (1958) experimentell gezeigt, dass an der Schleimhautoberfläche gleichviel Zellen untergehen wie im Stratum basale des entsprechenden Abschnittes neue Zellen nachgebildet werden. Sie beobachteten, dass bei längerem Nahrungsentzug eine Störung des Fließgleichgewichtes eintrat. Die Autoren nehmen an, dass die Erniedrigung der Zellneubildungsrate durch den geringen Zellverlust an der Schleimhautoberfläche verursacht wurde.

Meine Arbeit soll zeigen, in welchem Umfang die Erneuerung der Oralmucosa von exogenen Faktoren, d. h. hier durch die Nahrungsaufnahme hervorgerufenen Schleimhautirritation abhängt. Dass daneben eine Anzahl endogen wirksamer Komponenten besteht, ist durch zahlreiche Untersuchungen bewiesen. 1949 zeigte BULLOUGH in einem Experiment an der Epidermis von erwachsenen männlichen Mäusen, dass mitotische Aktivität in stärkerem Masse von der Zucker-Glykogen-Konzentration im Gewebe abhängt und dass sowohl bei der normalen Zellteilung als auch bei der Tumorentstehung das Kohlenhydratangebot von ausschlaggebender Bedeutung sein soll. Die höchste Rate der Mitoseaktivität liegt nach BULLOUGH's Untersuchungen vor, wenn die höchste Speicherungsrate von Blutzucker im Gewebe vorhanden ist. Diesen Zustand hat BULLOUGH in seinem Experiment artifiziell durch Injektion von Kohlehydraten herbeigeführt und dadurch eine erhöhte Proliferation in den schnellen Wechselgeweben provoziert. Umgekehrt soll eine Erniedrigung des Blutzuckerspiegels (z. B. durch Insulin) zu einem fast völligen Stillstand der Mitoseaktivität in der Epidermis führen.

Nach den Untersuchungsergebnissen von KIRSCHNER ist anzunehmen, dass Dämmerungsbeginn, lokomotorische Aktivität der Tiere, Nahrungsaufnahme und Schleimhautirritation einerseits und der Beginn der DNS-Synthese in den Zellen des Stratum basale der Oralmucosa andererseits unmittelbar voneinander abhängen. Durch die Änderung des Faktors "Nahrungskonsistenz" konnte ich in meinen Untersuchungen Beginn und die fortlaufende Epithelregeneration zeitlich signifikant verändern.

Ich nehme nicht an, dass eine volumenmässig geringere Nahrungsaufnahme gleichen Gehalts diese Verzögerung bedingt, sondern dass im wesentlichen die Konsistenz des Futters für diese Verzögerung verantwortlich ist.

Zusammen mit KIRSCHNER wurde überlegt, auf welche Weise aus den vorhandenen Schleimhautserienschnitten des Tiermaterials mehrerer Versuche ein Beweis für das zeitlich unterschiedliche Einsetzen der DNS-Synthese-Aktivität bei hart- und weichfutterernährten Mäusen erbracht werden könnte. Dabei stellte sich heraus, dass das Volumen der Schleimhaut für alle Versuche als ein Indikator für die tages-nacht-rhythmische Zellneubildungsaktivität gelten konnte. Wie unter Teil C "Ergebnisse" dieser Arbeit beschrieben, war dann eine

grösste Schleimhautausdehnung zu registrieren, wenn die Zellneubildungsvorbereitung einen Höhepunkt erreicht hatte. So ergaben sich parallel zur Höhe der ^3H -Indices Messkurven für das Schleimhautvolumen, die als Indikator für den erhöhten Stoffumsatz im Stratum basale der Oralschleimhaut anzusehen sind. Die Parallelität dieser Vorgänge ist nicht so sehr ein Hinweis für auslösende Faktoren (Faktor) der DNS-Synthese, sondern vielmehr eine Untermauerung der unterschiedlich signifikanten Versuchsergebnisse nach Verabreichung zweier Kostformen. In der mir zugänglich gewordenen Literatur gibt es kein Beispiel für gleiche oder ähnliche Versuchsanordnungen und Ergebnisse.

E ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe der autoradiographischen Technik wurde die Zellneubildung (in der S-Phase) im Stratum basale der Mundschleimhaut der Maus in 4stündigen Abständen über 24 Stunden untersucht.

I. Durch Änderung der Nahrungskonsistenz (von Hartfutter in Weichfutter gleicher Zusammensetzung) können Beginn und Ausmass der Zellneubildung signifikant verändert werden.

- a) Die Zellneubildung ist innerhalb der 24-Stunden-Periode einem prägnanten Rhythmus unterworfen.
- b) Bei weichfutterernährten Mäusen setzt die S-Phase - im Vergleich zu hartfutterernährten Tieren - um ein 4-Stunden-Intervall später ein (von 20⁰⁰ nach 24⁰⁰ Uhr) und gewinnt ihren Höhepunkt um 24⁰⁰ Uhr.
- c) Die Geasmtzellneubildung (über 24 Stunden) liegt bei weichfutterer - nährten Tieren tiefer als bei hartfutterernährten Mäusen.
- d) Es sind jene Schleimhautbezirke am stärksten an der Zellneubildung beteiligt, die bei der Nahrungsaufnahme (auch bei Weichfutterernäh - rung) in engstem Kontakt mit der Nahrung stehen (Zungenoberfläche und mittlerer Gaumenabschnitt).
- e) Schleimhautregionen, in denen die Zellneubildung später einsetzt, erhalten diese länger aufrecht.
- f) Schleimhautbezirke mit stark unterschiedlicher mechanischer Bean - spruchung (auch bei Weichfutter) weisen über 24 Stunden die grössten Abweichungen in der Zellneubildung auf (z. B. Zungenunterseite [gering], Zungenoberseite [stark]).

II. Das Volumen der Mundschleimhaut (geprüft im Unterzungenbereich) ändert sich in Anlehnung an die tag-nacht-rhythmische Zellneubildung (grösstes Volumen bei höchster Zellneubildungsaktivität).

F L I T E R A T U R

- Aschoff, J. Zeitgeber der tierischen Tagesperiodik.
Naturwissenschaften 41, 49 - 56 (1954)
- Aschoff, J. Zeitgeber der 24-Stunden-Periodik.
Suppl. Acta med. Scand. 307, 50 - 52 (1955)
- Aschoff, J. Tagesperiodik bei Mäusestämmen unter konstanten Umge-
bungsbedingungen.
Pflügers Archiv 262, 51 - 59 (1955)
- Aschoff, J. Exogene und endogene Komponente der 24-Stunden-Periodik
bei Tier und Mensch.
Naturwissenschaften 42, 569 - 575 (1955)
- Aschoff, J.
Meyer-Lohmann, J. Die Aktivitätsperiodik von Nagern im künstlichen 24-Stunden-
Tag mit 6 - 20 Stunden Lichtzeit.
Zschr. f. vergl. Physiologie 37, 107 - 117 (1955)
- Belanger, L. E.
Leblond, C. P. A method for locating radioactive elements in tissues by
covering histological sections with a photographic emulsion.
Endocrinology 39, 8 - 13 (1946)
- Bertalanffy, F.
Lau, C. Cell Renewal.
Int. Rev. Cytol. 13, 357 - 366 (1962)
- Bertalanffy, F.
Lau, C. Mitotic rates, renewal times and cytodynamics of the female
tract epithelia in the rat.
Acta anat. 54, 39 - 81 (1963)
- Bertalanffy, F. Tritiated thymidine versus colchicine technique in the study of
cell population cytodynamics.
Labor. Invest. 13, 871 - 886 (1964)
- Bullough, W. S. Mitotic activity in the adult male mouse, *Mus musculus* L.
The diurnal cycles and their relation to waking and sleeping.
Proc. Roy. Soc. 135, 212 - 242 (1948)
- Bullough, W. S. The effects of high and low temperatures on the epidermal
mitotic activity of the adult mouse, *Mus Musculus* L.
J. Exper. Biol. 26, 76 - 82 (1949)
- Bullough, W. S. The effect of a restricted diet on mitotic activity in the mouse.
The British Journal of Cancer 3, 275 - 282 (1949)
- Burck, H. Ch. Histologische Technik.
Thieme, Stuttgart (1963)
- Cameron, J. L.
Greulich, R. C. Evidence for an essentially constant duration of DNS-synthesis
in renewing epithelia of the adult mouse.
J. Cell Biol. 18, 31 - 40 (1963)
- Cameron, J. L.
Cleffmann, G. Initiation of mitosis in relation to the cell cycle following
feeding of starved chickens.
J. Cell Biol. 21, 170 - 174 (1964)

- Ebneter, M. Mitoseperiodik im Colchizinversuch.
Med. Diss., Zürich (1958)
- Fitzgerald, P. J. Tritium in Radioautography.
Science 114, 494 - 498 (1951)
- Eidinoff, M. L.
- Knoll, J. E.
- Simmel, E. B.
- Haim, G. Elektronenmikroskopische Untersuchungen des normalen
Epithels der menschlichen Mundschleimhaut.
Hanser, München (1964)
- Hartl, St. Die 24-Stunden-Periodik der mitotischen Aktivität und der
Rundzelleninfiltration im Epithel der Interdentalpapille
der Ratte.
Med. Diss., Zürich (1955)
- Hooper, C. S. The effect of starvation on epithelial renewal in the rat
duodenum.
Exp. Cell Research. 14, 175 - 181 (1958)
- Bliar, M.
- Hughes, W. L. Autoradiography with tritium : the duplicating mechanism
of chromosomes and the chronology of events related to
nucleic acid synthesis.
Proc. 2nd Int. Conf. on Peaceful Uses of Atomic Energy 25,
203 - 210 (1959)
- Joftes, D. L. Simplified liquid emulsion radiography.
Warren, Sh. J. Biol. Phot. Assoc. 23, 145 - 150 (1955)
- Joftes, D. L. Liquid emulsion autoradiography with tritium.
Lab. Invest. 8, 131 - 138 (1959)
- Kirschner, H. Zellneubildung der Mundschleimhaut.
Naturwissenschaften 54, 255 - 256 (1967)
- Kirschner, H. Beeinflussung der Zellneubildung in der Mundschleimhaut.
Dtsch. zahnärztl. Zschr. 22, 1560 (1967)
- Kirschner, H. Autoradiographische Untersuchungen über die Regeneration
der Mundschleimhaut.
Med. Habil. Schr., Giessen (1968)
- Kirschner, H. Autoradiographische Untersuchungen mit ^3H -Thymidin über
die Regeneration des epithelialen Attachments.
Rühl, E. Dtsch. zahnärztl. Zschr. 24, 816 - 824 (1969)
- Kirschner, H. Volumetrische und autoradiographische Untersuchungen der
Oralmucosa im Tag-Nacht-Rhythmus.
Dtsch. zahnärztl. Zschr. 2, 208 - 210 (1970)
- Koburg, E. Autoradiographische Untersuchungen zur Zellneubildungsrate
an den Epithelien des oberen Respirations- und Verdauungs-
traktes.
Arch. Ohr-, Nas. u. Kehlk.-Heilkde. 180, 616 - 621 (1962)

- Koburg, E.
Maurer, W. Autoradiographische Untersuchung mit ^3H -Thymidin über die Dauer der Desoxyribonukleinsäure-Synthese und ihren zeitlichen Verlauf bei den Darmepithelien und anderen Zelltypen der Maus.
Biochem. Biophys. Acta 61, 229 - 242 (1962)
- Lettré, R.
Paweletz, N.
Ghosh, S.
Siebs, W. Morphologische Untersuchungen von Funktionsstrukturen des Interphasekerns am Modell des Nukleolus.
Institut für experimentelle Krebsforschung, Heidelberg,
Zsch. Fa. Nordmark, Hamburg (1968)
- Messier, B.
Leblond, C. P. Cell proliferation and migration as revealed by radioautography after injection of thymidine - H^3 into male rats and mice.
Am. J. Anat. 106, 247 - 265 (1960)
- Mühlemann, H. R.
Hartl, S. Daily variations of mitotic and inflammatory cell migration in the epithelium of the intermolar papilla in rats.
Bull. Acad. suisse sc. med. 11, 378 (1955)
- Oehlert, W. Der Mechanismus der physiologischen Regeneration und der Hyperplasie nach autoradiographischen Untersuchungen.
Verh. d. Dtsch. Ges. f. Path. 45. Tgg., 98 - 103 (1961)
- Oehlert, W.
Büchner, Th. Mechanismus und zeitlicher Ablauf der physiologischen Regeneration im mehrschichtigen Plattenepithel und der Schleimhaut des Magen - Darm - Traktes der weissen Maus.
Beitr. path. Anat. 125, 374 - 402 (1961)
- Oehlert, W. Die Steuerung der Regeneration im mehrschichtigen Plattenepithel.
Verh. d. Dtsch. Ges. f. Path. 50. Tgg., 90 - 118 (1966)
- Oehlert, W.
Karasek, J.
Bertelmann, H. Untersuchungen zur normalen und gesteigerten Zellneubildung im mehrschichtigen Plattenepithel der Schweineepidermis.
Beitr. path. Anat. 134, 395 - 417 (1966)
- Pinkus, H. Examination of the epidermis by the strip method of removing horny layers.
J. Invest. Derm. 16, 383 - 386 (1951)
- Pinkus, H. Examination of the epidermis by the strip method. II. Biometric data on regeneration of the human epidermis.
J. Invest. Derm. 19, 431 - 447 (1952)
- Rogers, A. W. Techniques of Autoradiography.
Elsevier Publishing Co., London (1967)
- Rolshoven, E. Eine Kritik der Zellteilungslehre als Schlüssel zum Krebsproblem.
Die Medizinische Welt 50, 1567 - 1570 (1951)

- Rupf, W. Tag - Nachtrhythmus der mitotischen Aktivität im oralen und cornealen Epithel der weissen Ratte.
Med. Diss., Zürich (1959)
- Schultze, B. Autoradiographic investigation of incorporation of ^3H - thymidine into cells of the rat and mouse.
Science 131, 737 - 738 (1960)
- Taylor, J. H. Autoradiography with tritium - labeled substances.
Arch. biol. med. Phys. 7, 107 - 130 (1960)
- Winer, B. J. Statistical principles in experimental design.
New York (1962)
- Zollinger, H. U. Pathologische Anatomie, Band I
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1968)

L e b e n s l a u f

Am 1. September 1936 wurde ich in Luzern als Sohn des Karl Huber und seiner Ehefrau Lydia geb. Neczkow geboren. Ab Frühjahr 1943 besuchte ich dort die Primarschule und die ersten vier Klassen des städtischen Gymnasiums. Nach einer längeren Kur im Engadin wegen Lungen-Tbc und einem einjährigen Aufenthalt an einem Lausanner Institut schloss ich das Gymnasialstudium 1958 an der Benediktinerschule in Sarnen mit der Maturität Typus B ab. Im Wintersemester 1959 begann ich an der Universität in Bern das Studium der Zahnheilkunde und beendete es am 5. Mai 1966 mit der Erlangung der Approbation als Zahnarzt. Nach der Assistenzzeit bei den Herren Zahnärzten Dr. Flückiger in Lyss und Dr. Weber in Burgdorf und einem militärischen Wiederholungskurs als Zahnarzt zweier Rekrutenschulen in Aarau übernahm ich im nahen Rohr eine bestehende zahnärztliche Praxis, die ich zeitweise durch einen Assistenten verwalten liess. Mit zeitlichen Unterbrechungen widmete ich mich seit 1967 der vorliegenden experimentellen Dissertationsarbeit unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. H. Kirschner an der Justus Liebig-Universität in Giessen. An dieser Stelle möchte ich ihm für seine wertvolle Hilfe und seine wissenschaftliche Beratung herzlich danken.

